

ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ НЕКОТОРЫХ МИКРОБОВ
В БЛОХАХ *XENOPSYLLA CHEOPIS* (SIPHONAPTERA)
ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ

В. С. Ващенко

Зоологический институт АН СССР, Ленинград

При внутриполостном экспериментальном заражении различные микробы вызывали у блох *X. cheopis* устойчивую инфекцию, от которой подопытные насекомые, как правило, не освобождались до конца жизни. При этом листерии и сальмонеллы мышинного тифа, интенсивно размножаясь, обуславливали гибель всех эктопаразитов на 3—5-е сутки. Нарастание численности кишечной палочки, возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза и микробов вакцинных штаммов чумы и туляремии происходило постепенно, а зараженные блохи доживали до 15—20 и более дней.

Основным местом переживания в организме блох передаваемых ими возбудителей является, по общепринятому мнению, пищеварительный тракт (Бибикова, Классовский, 1974). Вместе с тем имеются указания, что при некоторых бактериальных инфекциях микробы в этих переносчиках могут распространяться за пределы кишечника. Об этом свидетельствуют, в частности, проведенные Эпштейном с соавт. (1935) гистологические исследования блох, инфицированных пневмококками. Нами у экспериментально зараженных блох в отдельных случаях наблюдалось проникновение в полость тела из кишечника сальмонелл мышинного тифа и листерий (Ващенко, Чиров, 1975, 1976). Причем выход микробов в полость тела сопровождался выраженными патологическими изменениями в стенке средней кишки, приводил к обильному обсеменению гемоцеля и наблюдался чаще всего у погибших особей. Можно было предполагать, что это происходило вследствие обострения инфекционного процесса и приводило к быстрой гибели насекомых. Высказанное предположение, однако, не было подтверждено специальными наблюдениями.

Единственная работа, в которой для заражения блох наряду с кормлением на больных животных использована внутриполостная инокуляция, проведена с риккетсиями Бернета (Weyer, 1953). Автором было показано, что этот возбудитель, плохо сохранявшийся в подопытных эктопаразитах, инфицированных кормлением, активно размножался в их организме при введении непосредственно в полость тела.

Отсутствие экспериментальных наблюдений за судьбой возбудителей бактериальных инфекций при их попадании в полость тела блох обуславливает определенный пробел в изучении биологических взаимоотношений этих насекомых с болезнетворными микроорганизмами. Учитывая это, нами было проведено исследование возможности переживания и размножения некоторых микробов в блохах *Xenopsylla cheopis* Roths. при внутриполостном заражении.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опытах использованы самки блох *X. cheopis* из лабораторной культуры, кормившиеся до этого в течение 5—10 дней на белых мышах. Заражение эктопаразитов, предварительно подвергнутых легкому эфирному

наркозу, проводили с помощью остро отточенной препаровальной иглы. Конец иглы смачивался в приготовленной на физиологическом растворе взвеси микробов, и им под бинокулярной лупой делался осторожный прокол покровов блох в области сочленованной мембраны между 6-м и 7-м тергитами брюшка. Микробная взвесь готовилась по стандарту мутности в концентрации 1 млрд. микробных клеток. Приготовленная таким же образом взвесь туляремиальных микробов разводилась перед употреблением в 10 раз.

Для инфицирования блох применялись следующие микроорганизмы:

1. Кишечная палочка (*Escherichia coli*; музейные культуры K12C и 0124 и свежeweделенный штамм этого же микроба).

2. Псевдотуберкулезный микроб (*Yersinia pseudotuberculosis*; штамм 1 серотипа по Талю № 439, выделенный в лаборатории Ленинградской противочумной станции от серой крысы).

3. Возбудитель кишечного иерсиниоза (*Y. enterocolitica*; штамм 9 серотипа NMy79B, полученный Всесоюзным институтом эпидемиологии от доктора С. Винблада (S. Winblad, Университет, Мальме, Швеция).

4. Сальмонеллы мышинного тифа (*Salmonella typhimurium*; штамм, выделенный от домовой мыши в лаборатории Ленинградской противочумной станции).

5. Листерии (*Listeria monocytogenes*; штамм № 944, выделенный от домовой мыши, получен из Института эпидемиологии и микробиологии им. Гамалеи, Москва).

6. Живая противочумная вакцина «EV».

7. Живая противотуляремиальная вакцина.

Выявление микробов у насекомых, инфицированных вакцинным штаммом туляремии, проводилось на гистологических парафиновых срезах, которые готовились из материала, фиксированного в Карнуа, и окрашивались по Романовскому-Гимза. Помимо этого, использованы мазки гемолимфы, внутренних органов и тканей подопытных насекомых, фиксированные в спирте и просматривавшиеся в люминисцентный микроскоп после обработки по Кунсу туляремиальной люминисцентной сывороткой.

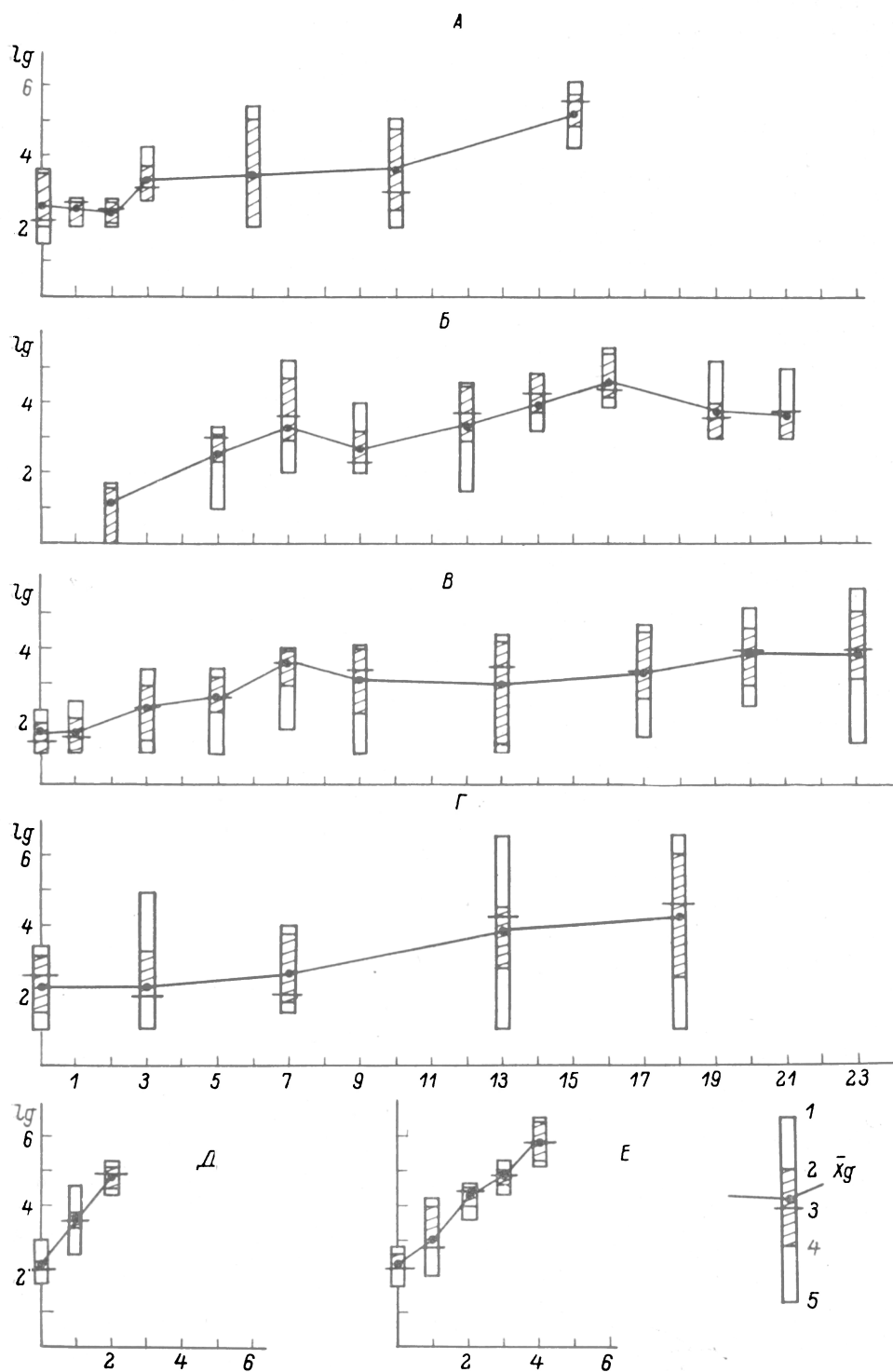
Блохи, зараженные другими микробами, подвергались бактериологическому исследованию. Эктопаразиты индивидуально растирались в фарфоровых ступках с добавлением определенного объема физиологического раствора, а полученная таким образом эмульсия в возрастающих разведениях мерно высевалась на мясо-пептонный агар (рН 7.2). Об обилии содержащихся в них микробов судили по количеству выросших на питательной среде колоний. В каждом случае исследовалось по 5 блох. Опыты с разными возбудителями проведены в 2—4 повторностях.

Для количественной оценки изменений численности микробов в организме переносчика использована средняя геометрическая и квантильные статистические показатели.

Работа выполнена в бактериологической лаборатории Ленинградской противочумной станции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наблюдения показали, что введением инфекции в полость тела можно вызвать устойчивое заражение блох *X. cheopis* различными микробами. Исключение представила музейная культура кишечной палочки K12C, с которой было проведено 2 опыта и оба с отрицательными результатами. В течение 36 дней наблюдений было исследовано 77 блох, включая эктопаразитов, исследованных в первые полчаса после заражения, и от них не было выделено ни одной культуры этого микроба. Вместе с тем у насекомых, зараженных другим музейным штаммом кишечной палочки (0124), сохранение инфекции прослежено до 20 суток. Возбудитель, однако, выделялся не от всех особей. Более того, результаты разных опытов существенно отличались. В одном из них микробов не удавалось обнаруживать в течение 4 первых дней, а затем они выявлялись у 25% исследован-



Ход численности различных микробов в блохах *Xenopsylla cheopis* после внутриполостного заражения.

А — кишечная палочка; Б — вакцинный штамм чумного микроба; В — псевдотуберкулезный микроб; Г — возбудитель кишечного иерсиниоза; Д — листерии; Е — листерии мышинного тифа; \bar{x}_g — средняя геометрическая; q_i (квантили): 1 — 0.9, 2 — 0.75, 3 — 0.5, 4 — 0.25, 5 — 0.1.

1-ых эктопаразитов, выращавшее от них количество колоний варьировало от 10 до 10 тыс. В другом опыте с этим же штаммом зараженные блохи отмечались в течение всего 15-дневного срока наблюдений. Однако процент насекомых, от которых выделялись микробы, снижался с 60—80 в первые 3 дня после заражения до 30 — на 8—15-е сутки. В то же время число колоний, выращавшее от отдельных особей, к концу опыта возрастало. Так, при исследовании в первые полчаса после инокуляции от каждой блохи вырастало 20—30 колоний, а на 8—15-е сутки этот показатель находился в пределах 4—10 тыс. И, наконец, свежевыделенный штамм этого же микроба обеспечивал в течение всего 15-дневного периода наблюдений 100%-ную зараженность подопытных насекомых. Причем средний уровень численности возбудителя в их полости (см. рисунок, А) в течение первых 2 суток не менялся или даже несколько уменьшался, затем начинал возрастать и к концу наблюдений достигал многих десятков и сотен тысяч микробных клеток.

У блох, инокулированных чумной вакциной (см. рисунок, Б) в течение 1-х суток, включая посевы, сделанные в первые полчаса после заражения, применявшиеся методы исследования не позволяли обнаруживать инфекцию. Позднее небольшое число колоний вырастало от отдельных особей, а начиная с 5-х суток микробы вакцинного штамма чумы выделялись от всех исследованных эктопаразитов. Максимальная численность микробов наблюдалась на 16-е сутки, когда от каждой блохи вырастали многие десятки и сотни тысяч колоний, после чего показатель обилия возбудителя заметно снижался. Однако освобождения эктопаразитов от инфекции не наблюдалось.

На рисунке (В) представлены результаты бактериологического исследования блох, зараженных псевдотуберкулезным микробом. Все эктопаразиты оставались инфицированными до конца наблюдений, продолжавшихся 24 дня. При этом у подавляющего большинства подопытных насекомых происходило постепенное нарастание количества возбудителя. Средние показатели к концу срока доходили до 100 тыс., а максимальные превышали 1 млн. микробных клеток. Еще более отчетливое нарастание бактериальной массы наблюдалось у блох, которым вводился возбудитель кишечного иерсиниоза (см. рисунок, Г). Вместе с тем следует указать, что наряду с неуклонным увеличением средних и максимальных показателей численности микробов в течение всего периода постоянно встречались экземпляры, от которых вырастало не более 10—50 колоний.

Особенно быстро происходило накопление в организме блох листерий (см. рисунок, Д). Численность этого возбудителя ежедневно возрастала более чем на один порядок и к исходу 2-го дня ее уровень исчислялся многими десятками и даже сотнями тысяч микробных клеток. При этом размножение листерий сопровождалось интенсивным отмиранием подопытных эктопаразитов. Погибшие особи отмечались уже на следующие сутки после заражения, а на 3-й день погибали все взятые в опыт насекомые. Сходная картина наблюдалась в партиях блох, инфицированных сальмонеллами мышинного тифа (см. рисунок, Е) с той разницей, что нарастание численности возбудителя происходило несколько медленнее. Однако в конечном итоге она достигала еще более высоких показателей (сотен тысяч и миллионов микробных клеток), а гибель всех подопытных насекомых происходила на 5-е сутки.

Выявление микробов у блох, инфицированных вакцинным штаммом туляремии, проводилось, как отмечалось, на гистологических срезах, окрашенных по Романовскому-Гимза, и отчасти на мазках, обработанных антительной люминесцирующей сывороткой. Наблюдения показали, что этот микроб активно размножался в полости тела блох. Возбудитель обнаруживался в форме мелких коккобактерий с диаметром около 1 мкм, начиная с 5-го дня после инъекции и затем на протяжении всего срока наблюдений, составившего 25 дней. Особенно значительные скопления микробов, заполнявших промежутки между внутренними органами, отмечались на 10-е сутки и позднее. Исследование в люминесцентном микро-

скопе мазков, приготовленных от 10 экз. блох на 10-е и 16-е сутки, также позволило выявить большие скопления микробов, дававших специфическое изумрудно-зеленое свечение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного экспериментального исследования установлено, что различные микробы, попадая в полость тела блох, не утрачивают жизнеспособности и могут вызывать устойчивое заражение этих эктопаразитов. При этом листерии и сальмонеллы мышиного тифа, интенсивно размножаясь, вызывали гибель всех подопытных насекомых на 3—5-е сутки. Нарастание численности других использованных в опытах микроорганизмов (кишечной палочки, возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, вакцинных штаммов чумного и туляремийного микробов) происходило постепенно, а зараженные ими эктопаразиты доживали до 15—20 и более дней.

Размножению микробов, за исключением сальмонелл и листерий, обычно предшествовала в той или иной степени выраженная лаг-фаза. Причем у блох, зараженных вакцинным штаммом чумы, а также в некоторых опытах с кишечной палочкой, в первые сутки после инокуляции не удавалось обнаружить инфекцию посевом эмульсии растертых эктопаразитов на агар. Это, по-видимому, может свидетельствовать об уменьшении количества микробов под воздействием защитных факторов организма переносчика и, кроме того, позволяет предполагать о претерпеваемых ими изменениях и связанной с ними временной утратой способности расти на применявшейся питательной среде. Характерно, что в некоторых группах блох, в частности среди эктопаразитов, зараженных бактериями псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза, при общей тенденции к постепенному увеличению численности возбудителя постоянно встречались особи с очень низким содержанием микробов. Вместе с тем полного освобождения подопытных насекомых от инфекции, как правило, не происходило, и они оставались зараженными до конца жизни.

Л и т е р а т у р а

- Бибикова В. А., Классовский Л. Н. 1974. Передача чумы блохами. «Медицина», М.: 3—188.
- Вашенко В. С., Чиров П. А. 1975. Гистологическое исследование блох *Ceratophyllus consimilis* Wagn., зараженных возбудителем мышиного тифа (*Salmonella typhimurium*). — Паразитология, 9 (2): 158—163.
- Вашенко В. С., Чиров П. А. 1976. Гистологическое исследование блох *Ceratophyllus consimilis* Wagn., зараженных возбудителем листериоза (*Listeria monocytogenes*). — Паразитология, 10 (1): 61—66.
- Эпштейн Г. В., Сильверс И. Л., Экземплярская Е. В. 1935. Крысиные блохи как переносчики экспериментальной пневмококковой инфекции. — В кн.: Паразиты, переносчики и ядовитые животные. М.—Л.: 129—137.
- Weyer F. 1953. Beziehungen des Q-Fiebers-Erregers (*Rickettsia burneti*) zu Arthropoden. — Z. Tropenmed. u. Parasitol., 4 (3): 344—382.

SOME REPRODUCTIVE PECULIARITIES OF MICROBES IN FLEAS XENOPSYLLA CHEOPIS (SIPHONAPTERA) AT THE PARENTERAL INFECTION

V. S. Vashchenok

S U M M A R Y

Being inoculated parenterally various microbes cause in fleas *X. cheopis* a stable infection which, as a rule, is preserved in experimental insects to the end of life. Reproducing intensively *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* caused the death of all ectoparasites in 3 to 5 days. The increase in abundance of *Escherichia coli*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* and vaccine strains of *Y. pestis* «EV» and *Francisella tularensis* went on gradually and infected fleas lived up to 15—20 and more days.